

conservées à 15°C pendant les 9 jours suivant leur formation, soit jusqu'à la fin de la lyse cellulaire afin d'obtenir le maximum de sang et le moins de débris possible.

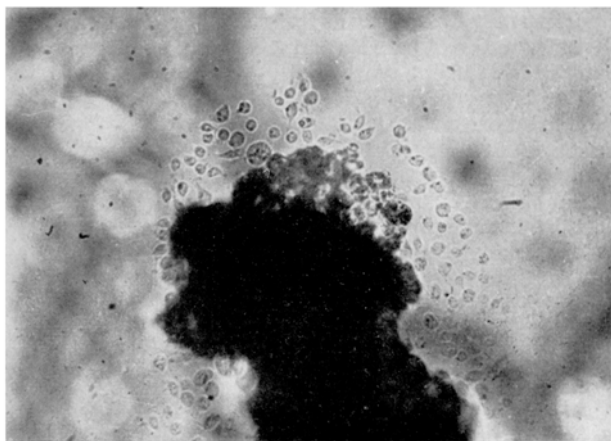


Fig. 1. Culture d'ovaire nymphal *Bombyx mori* L. 48 h. Emigration de fibroblastes et de cellules fusiformes. Contraste de phase: 850 ×.

L'hémolymphe est collectée en ampoules sans précautions d'asepsie. Elle est chauffée ensuite à 60°C pendant 5 min afin d'inactiver la tyrosinase et de permettre la filtration et la centrifugation à 7 000 t/min pendant 20 min. Le surnageant est employé de plusieurs façons. Il peut être immédiatement mélangé au milieu et filtré avec celui-ci sur bougie Chamberland L₃ afin d'obtenir un milieu complet. Il peut également être filtré seul et conservé en ampoules scellées à 4°C pendant plusieurs mois. Dans ce cas, au moment de la préparation du milieu, il sera ajouté à ce dernier filtré à part. On peut enfin le congeler à -20°C et le filtrer avec le milieu au moment de l'emploi.

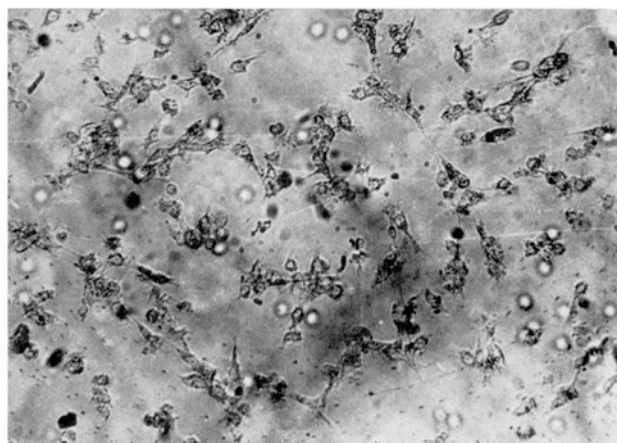


Fig. 2. La même culture au bout de 6 jours. Couche homogène de fibroblastes. Contraste de phase: 850 ×.

Le tissu mis en culture est un fragment d'ovaire prélevé aseptiquement sur chrysalide de formation récente quand les œufs ne sont encore que faiblement développés. La partie mince de la chaîne ovarienne est découpée aseptiquement en très petits morceaux dont le diamètre est inférieur à 1 mm.

Les explants d'ovaire conservent leurs mouvements de contraction pendant plus d'un mois. L'émigration des cellules commence au bout de 15 h et persiste avec aug-

mentation d'intensité périodique après chaque changement de milieu.

Les cellules forment un halo autour des fragments et couvrent au bout de 5 jours une plage correspondant à deux fois celle de l'explant. Après 11 jours, une grande surface est recouverte d'une façon homogène (Fig. 1 et 2).

Ces cellules sont du type fibroblaste. Elles conservent quelquefois une forme ovoïde ou fusiforme avec pseudopodes ramifiés et courts. La forme «fibroblaste» prédomine lorsque la culture s'étale sur une surface plane et le type «fusiforme» lorsque les cellules s'accumulent à la surface du milieu (Fig. 1). Notons que les cellules sont également fusiformes ou piriformes lorsqu'elles sortent du tissu ovarien pour émigrer dans le milieu. Elles s'arrondissent pendant la mitose.

A l'heure actuelle, les cultures ont été maintenues pendant plus de 40 jours avec changement de milieu tous les 4-5 jours. Le repiquage a également été réalisé.

Signalons que nous avons aussi obtenu la culture du tissu ovarien de nymphes, en employant comme milieu l'hémolymphe filtrée pure sans la mélanger à une solution physiologique. La contraction des fragments d'ovaire se maintient plusieurs semaines. L'émigration de fibroblastes et de cellules fusiformes est observée, mais les cellules sont assez vacuolisées.

La culture du tissu ovarien des nymphes de lépidoptères semble avoir un intérêt particulier pour le développement des méthodes de cultures de tissus d'insectes car les chrysalides offrent une source de tissus, disponible pendant une période sans doute variable selon les espèces, mais toujours incomparablement plus longue que les larves. Cet avantage est complété par la possibilité de stocker la matière première sans inconvénients, d'une part du fait de la diapause nymphale existant chez certaines espèces, d'autre part, grâce à la conservation à une température basse (4°C). Cet aspect est particulièrement intéressant pour les cultures en couches monocellulaires, possibilité en cours d'étude chez les invertébrés, que nous traiterons ultérieurement.

C. VAGO et S. CHASTANG

Institut National de la Recherche Agronomique, Laboratoire de Cytopathologie, Alès (France), le 7 juillet 1958.

Summary

Using a simplified medium, the composition of which is described in the text, cell cultures (fibroblast type) were obtained from nymphal ovarian tubes of *Bombyx mori*. The change in the form between fibroblasts and spindle cells is described. The preservation of activity of haemolymph congealed to -20°C for a long time is shown; the advantages of using nymphs for cultivating tissues in virological series are also noted.

INFORMATION

Corrigendum

H. M. HIRSCH: *Tumor-Isoimmunity*. Exper. 14, fasc.8, 269 (1958). The last sentence of the first paragraph from above, on page 270, second column, should read:

Antigens not present in normal host tissues have been reported in carcinogen-induced tumors by ZIL'BER *et al.*²⁰, and NARTISSOV and ZIL'BER²¹, and WEILER²² has reported that rat liver cell carcinoma lacked a liver-specific antigen.